

ALESSANDRA APARECIDA ALÇA ALVARES

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE EXTRATO DE *Yucca schidigera* NOS  
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS DE CÃES ADULTOS  
CONSUMINDO DUAS RAÇÕES COMERCIAIS

Dissertação apresentada como requisito à  
obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de  
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, do  
Setor de Ciências Agrárias da Universidade  
Federal do Paraná- área de concentração:  
Produção Animal.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Vitória Fischer da Silva

CURITIBA

2006

Pelo trabalho o homem se realiza, se constrói  
e constrói o mundo e os outros...  
Prof Felipe Aquino

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade desse estudo e por tudo que realiza em nossas vidas,

Agradeço a todos que fizeram parte dessa importante etapa de minha carreira profissional, com o incentivo, compreensão, correções, presença e apoio...

À minha família, pelo amor, paciência, presença muitas vezes silenciosa e também ao fato do meu pai ter participado com seu bom humor da equipe de coleta.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Ana Vitória Fischer da Silva, pela confiança e orientação docente e científica.

Especial agradecimento ao Prof Metry Bacila, pelas valiosas correções nesse trabalho e por ser exemplo de dedicação à ciência e às pessoas.

À Prof<sup>a</sup> Rosângela Locatelli Dittrich, pela oportunidade de aperfeiçoamento no laboratório, pesquisas e docência. E pelo aceite de participar da banca de qualificação e defesa.

Aos professores Fabiano Dalke e Fabiano Montiani pelos auxílios estatísticos.

À “madrinha” de mestrado Prof<sup>a</sup> Elizabeth Popazoglo e ao Prof Alexander Biondo, pelo incentivo e empréstimos de livros.

Ao professor Alex Maiorka, pelo apoio ao longo desse trabalho e por participar da banca de qualificação.

Ao professor Luiz Cláudio Fernandes por participar da banca de defesa.

À Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFPR,

Ao Hospital Veterinário, em nome dos professores Marcos Vinicius Ferrari, Rogério Lange e Veterinárias Michelle, Paula, Gisele, Thais e Aletheia e ao Grupo Fowler pela oportunidade de crescimento profissional.

Ao Departamento de Medicina Veterinária, pelo aceite do desenvolvimento do projeto.

Aos quartéis da Polícia Militar do Paraná e Polícia do Exército da Região Sul, pelo auxílio à ciência, fornecendo seus cães para esse estudo e disposição de pessoal na execução do projeto.

A amiga mestranda Nancy Rivera pela rica colaboração.

Aos demais mestrandos de 2004 e 2005 pela amizade e colaboração.

Aos alunos e colegas: Paula Linder, Marcos, Rodrigo Bordignon, Nicolle Plugge, Daniele Hoffmann, Louise, pelos auxílios nas coletas e processamento das amostras.

À amiga Lia Lenati, pelo auxílio nas coletas e correção do abstract.

Aos incentivadores Vamilton Santarém, Cecília Laposy, Marconi Farias e James por me recomendar à UFPR.

Aos demais amigos que não mencionei aqui, minha alegria pertence a vocês também, obrigada pela força na hora certa!

E ao Apache, meu beagle de 11 anos que conhece bem um estetoscópio...

A vocês todo meu respeito, amizade e admiração.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	6
LISTA DE TABELAS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS.....	6
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1. BIOQUÍMICA DO SANGUE.....	9
2.1.1 Proteínas.....	10
2.1.1.1 Proteínas plasmáticas.....	10
2.1.1.2 Albumina.....	11
2.1.1.3 Globulina.....	11
2.1.2 Bioquímica renal.....	11
2.1.2.1 Uréia.....	12
2.1.2.2 Creatinina.....	12
2.1.3 Outras análises bioquímicas.....	13
2.1.3.1 Alanina aminotransferase (ALT).....	13
2.1.3.2 Aspartato aminotransferase (AST).....	14
2.1.3.3 Fosfatase alcalina.....	14
2.1.3.4 Colesterol.....	14
2.2. HEMATOLOGIA.....	15
2.2.1 Eritrograma.....	15
2.2.2 Leucograma.....	17
2.2.2.1 Neutrófilos.....	17
2.2.2.2 Linfócitos.....	18
2.2.2.3 Monócitos.....	18
2.2.2.4 Eosinófilos.....	18
2.2.2.5 Basófilos.....	20
2.2.2.6 Interação basófilos-eosinófilos.....	20
2.3 RAÇÃO CANINA.....	21
2.4 EXTRATO DE <i>Yucca schidigera</i> .....	24
2.4.1 Efeito do YSE nos parâmetros hematológicos.....	26
2.4.2 Efeito do YSE nos componentes bioquímicos do sangue.....	26
2.4.3 Toxicidade.....	27
3.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 EXPERIMENTO I.....	29
3.1.1 Animais.....	29
3.1.2 Delineamento experimental.....	30
3.1.3 Ração experimental.....	30

3.2 EXPERIMENTO II .....	31
3.2.1 Animais .....	31
3.2.2 Delineamento experimental.....	32
3.2.3 Ração experimental .....	32
3.3 COLHEITA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	33
3.4 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXAMES DE SANGUE .....	33
3.5 EXAMES LABORATORIAIS .....	33
3.5.1 Bioquímica do sangue.....	33
3.5.2 Hemograma.....	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4.1 EXPERIMENTO I .....	35
4.1.1 Conclusões do experimento I.....	37
4.2 EXPERIMENTO II .....	38
4.2.1 Conclusões do experimento II.....	40
REFERÊNCIAS .....	41

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- FOTO ILUSTRATIVA DE <i>Yucca schidigera</i> .....	25
FIGURA 2- CANIL DA POLÍCIA MILITAR DE CURITIBA: EDUCANDÁRIO .....	29
FIGURA 3- CANIL DA POLÍCIA DO EXÉRCITO: QUARTEL GENERAL .....	31

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - NÍVEIS DE GARANTIA PARA ALIMENTOS COMPLETOS PARA CÃES ADULTOS .....	23
TABELA 2 - ANÁLISE QUÍMICA DA RAÇÃO DO EXPERIMENTO I (R1) .....	30
TABELA 3 - ANÁLISE QUÍMICA DA RAÇÃO DO EXPERIMENTO II (R2) .....	32
TABELA 4- MÉDIAS DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R1 ADICIONADA OU NÃO DE YSE .....	35
TABELA 5- MÉDIAS DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R1 ADICIONADA OU NÃO DE YSE .....	36
TABELA 6- MÉDIAS DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R2 ADICIONADA OU NÃO DE YSE .....	38
TABELA 7- MÉDIAS DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R2 ADICIONADA OU NÃO DE YSE .....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	- Alanina aminotransferase
AST	- Aspartato aminotransferase
CHCM	- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
EDTA	- Ácido Etileno-diaminotetracético
FA	- Fosfatase Alcalina
MAPA	- Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PT	- Proteína Total
PPT	- Proteína Plasmática Total
R1	- Ração 1
R2	- Ração 2
TGP	- Transaminase glutâmico pirúvica
TGO	- Transaminase glutâmico oxalacética
VCM	- Volume Corpuscular Médio
YSE	- Extrato de <i>Yucca schidigera</i>

## RESUMO

A composição bioquímica do plasma sangüíneo reflete de modo fiel o metabolismo animal, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos. O extrato de *Yucca schidigera* (YSE) possui alto teor de saponinas e glicocomponentes que têm a propriedade de fixar amônia e desta forma, reduzir os níveis de gases nocivos no ambiente, sendo muito utilizado em rações para cães. O objetivo do presente trabalho foi estudar os efeitos da adição de extrato de *Yucca schidigera* em duas rações comerciais para cães de guarda adultos, sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos em dois experimentos. No experimento I foram utilizados 17 cães que permaneceram em baias individuais. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, os dados foram analisados através do uso da Análise de Variância. Os tratamentos foram assim distribuídos: ração 1 (R1) sem adição de YSE (n= 9); ração 1 (R1) com adição de YSE (2g/Kg de ração) (n=8). Os animais foram submetidos a jejum prévio as coletas. Foram avaliados as concentrações séricas de proteína total, albumina, globulina, alaninoaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina, uréia, creatinina, colesterol e hemograma. O período experimental foi de sessenta dias. A adição de extrato de *Yucca schidigera* na ração (2,0g/Kg) de cães não afetou ( $p>0,05$ ) os parâmetros bioquímicos nem os parâmetros do hemograma, apesar da presença de aumento do VCM sugerir tendência a hemólise. Os animais deste experimento apresentaram eosinofilia e basofilia tendo como causa provável o fator alérgeno no ambiente. No experimento II foram utilizados 16 cães, que permaneceram em baias individuais. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, os dados foram analisados através do uso da Análise de Variância. Os tratamentos foram assim distribuídos: ração 2 (R2) sem adição de YSE (n= 8); ração 2 (R2) com adição de YSE (2g/Kg de ração) (n=8). Foram avaliados as concentrações séricas de proteína total, albumina, globulina, alaninoaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina, uréia, creatinina, colesterol e hemograma. Foi realizado jejum prévio as coletas. O período experimental foi de sessenta dias. A adição de extrato de *Yucca schidigera* na ração de cães não afetou ( $p>0,05$ ) os parâmetros bioquímicos (proteínas plasmáticas totais, proteína total, albumina, globulina, ALT, AST, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, colesterol) nem as concentrações de hemoglobina e leucograma. A adição de extrato de *Yucca schidigera* na ração de cães pode ter ação hemolítica, pois houve uma tendência de diminuição nos parâmetros sangüíneos de hemácias e hematócrito, contudo permanecendo dentro dos valores de referência.

Palavras-chave: parâmetros bioquímicos, cão, hemograma, nutrição, saponina.

## ABSTRACT

The biochemical blood plasma composition reflects in a faithful manner the animal metabolism, making it possible to evaluate tissue injuries, organ malfunction, animal adaptation before nutritional and physiological challenges and specific or nutritional metabolic unbalance. The *Yucca schidigera* (YSE) extract displays high levels of saponins and glycocomponents that have the property of fixating ammonia and lowering the levels of harmful gases in the environment being for these reasons widely used in commercial dog food. The present trial aimed to study the effects of the addition of *Yucca schidigera* extract in commercial dog food for adult dogs, over the biochemical and hemogram parameters in two experiments. A total of 17 dogs were studied in experiment I and they were kept in individual stalls. A completely randomized experimental design was used and the data were submitted to ANOVA. The treatments were distributed as follows: diet 1 (R1) without the addition of YSE (n = 9) and diet 1 (R1) with YSE (2g/Kg of commercial food) (n=8); The animals were submitted to nutritional restriction previous to the blood sample collections. The blood serum concentrations of total protein, albumin, globulin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase, urea, creatinine and cholesterol were evaluated. The experimental period was sixty days. There were no significant differences ( $p>0.05$ ) in the biochemical and hemogram parameters of the dogs fed with or without addition of the extract of *Yucca schidigera*, although the increased VCM value suggested tendency to hemolysis. It was found eosinophilia and basophilia in the animals from the experiment, which was probably due to allergens from the environment. In the experiment II, 16 adult dogs were used and kept in individual stalls. A completely randomized experimental design was used and the data were submitted to ANOVA. The treatments were distributed as follows: diet 2 (R2) without the addition of YSE (n = 8) and diet 2 (R2) with YSE (2g/Kg of commercial food) (n=8). The blood concentrations of total protein, albumin globulin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase, urea, creatinina, cholesterol and hemogram were evaluated. The animals were submitted to nutritional restriction previous to the blood sample collections. The experimental period was sixty days. There were no significant differences ( $p>0.05$ ) in the biochemical parameters of the dogs treated with or without addition of the extract of *Yucca schidigera* in the diet. The addition of the extract of *Yucca schidigera* in the diet may have a hemolytic action as it diminished ( $p<0,05$ ) the sanguineous values of erythrocyte and hematocrit when compared with the animals that had not received YSE, however it did not affect the others parameters of the hemogram.

Keywords: biochemical parameters dog, hemogram, nutrition, saponin.



## 1 INTRODUÇÃO

A relação entre homens e cães foi estabelecida desde muitos séculos, mas somente nesta última década é que a alimentação industrial passou a ter maior importância na criação de cães. O consumo de rações industrializadas e equilibradas nutricionalmente pode melhorar o estado fisiológico e sanitário dos animais. Algumas investigações têm mostrado que o extrato de *Yucca schidigera* (YSE), uma planta que contém glicocomponentes e saponina, auxilia na redução de odores fecais, especialmente por ligar-se à amônia, sendo utilizado na indústria de rações caninas. A nutrição é um dos fatores que pode alterar as análises laboratoriais, porém há poucos dados hematológicos e bioquímicos de referência para a comunidade médica veterinária. Muitas vezes a utilização de valores de referência de outros países pode não ser adequada para a interpretação clínica nacional. Portanto, são necessários estudos que forneçam aos clínicos e às futuras pesquisas subsídios para uma interpretação adequada dos dados laboratoriais.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. BIOQUÍMICA DO SANGUE

A composição bioquímica do plasma sangüíneo reflete de modo fiel a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003). No Brasil, é hábito comum alimentar os cães com alimento de sobra do consumo humano, rico em amido e carnes bovina e suína, que alteram os parâmetros bioquímicos do plasma. Esses parâmetros fornecem informações a respeito do estado clínico, nutricional, bem como tratamentos e prognósticos dos animais (GONZÁLEZ *et al.*, 2003).

## 2.1.1 Proteínas

### 2.1.1.1 Proteínas plasmáticas

As proteínas plasmáticas são sensíveis à influência nutricional (KANEKO *et al.*, 1997), pois, segundo VAL BICALHO e CARNEIRO (2002) os nutrientes protéicos são essenciais para a formação da globina e para uma adequada eritropoiese. A deficiência protéica é uma das causas de anemia nutricional, hipoproteïnemia e hipoalbuminemia (SZARFARE *et al.*, 1995; KANEKO *et al.*, 1997), podendo ser decorrentes tanto de deficiência quantitativa como qualitativa (MURRAY *et al.*, 1998).

As proteínas plasmáticas são, sem dúvida, as fontes protéicas mais facilmente disponíveis no organismo. A análise das proteínas plasmáticas pode ser empregada como avaliação do estado nutricional do animal. Devido à existência de relação muito estreita entre as proteínas plasmáticas e as tissulares, pode-se obter um número considerável de informações concernentes ao estado geral do metabolismo protéico. O fígado é considerado um órgão importante na utilização da proteína da dieta, sendo, também, o único entre tecidos e órgãos cujo conteúdo absoluto de proteína se altera continuamente, em função do padrão de consumo alimentar e do metabolismo (COLES, 1984).

As proteínas plasmáticas são sintetizadas no fígado e são sensíveis às influências nutricionais, fatores que devem ser interpretados e considerados na hipoproteïnemia e na hipoalbuminemia (LOPES *et al.*, 1996). O nível de síntese protéica do fígado está diretamente relacionado com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A e com a funcionalidade hepática (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

Após serem sintetizadas no fígado, exceto as imunoglobulinas, as proteínas são adicionadas ao sangue através dos capilares hepáticos. Globulinas, albumina e fibrinogênio são proteínas plasmáticas. As globulinas são importantes na resposta imune do organismo. O fibrinogênio participa do processo de coagulação. Se o sangue é removido do organismo e permanece em repouso ocorre coagulação, pela transformação do fibrinogênio em fibrina e obtém-se o soro que é utilizado para dosar albumina, globulinas e proteína total. Se adicionar anticoagulante na amostra de sangue obtém-se plasma e pode ser dosada a proteína plasmática total e o fibrinogênio (COLES, 1984; LOPES *et al.*, 1996; CUNNINGHAM, 2004).

As exigências dietéticas de proteína para a manutenção do corpo variam de acordo com a espécie, idade e demandas fisiológicas. Em animais adultos saudáveis, o balanço de nitrogênio é mantido de modo que a entrada dietética iguale a perda. Em espécies, como cães, a limitação dietética da proteína pode causar hipoproteïnemia e hipoalbuminemia. A hipoproteïnemia também pode ocorrer quando as exigências nutritivas não são atendidas como em consequência das síndromes de má-absorção ou má-digestão e lactação (THOMAS, 2000).

#### 2.1.1.2 Albumina

A albumina é a proteína plasmática de menor peso molecular e nos animais sadios constitui 40 a 60% da concentração total das proteínas séricas, variando entre as espécies, sendo a mais abundante proteína plasmática (COLES, 1984; BACILA, 2003).

A concentração sérica de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período mínimo de um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação. A diminuição da concentração de albumina no soro indica deficiência protéica (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003). Segundo LATIMER *et al.*, (2003) a hiperalbuminemia representa aumento relativo de albumina secundária a desidratação. O aumento absoluto de albumina é raro, conforme WILLARD *et al.*, (1994).

#### 2.1.1.3 Globulina

A concentração de globulina não é afetada pela dieta, exceto em casos de limitação dietética extrema de proteína (THOMAS, 2000).

#### 2.1.2 Bioquímica renal

As provas bioquímicas de função renal incluem a dosagem de uréia e creatinina, podendo incluir, também, alguns eletrólitos como sódio, potássio, cálcio e fósforo. Na presença de concentrações séricas ou plasmáticas aumentadas de uréia

e creatinina, mas ainda sem os sinais clínicos característicos desse acúmulo, tem-se “azotemia” e na presença dos sinais clínicos, “uremia”, ambas tendo como causas pré-renais - cardiopatias, desidratação, dieta rica em proteínas, febre e inanição, infecções; renais - nefrite, glomerulonefrite - e pós-renais - obstrução ou ruptura do trato urinário (LOPES *et al.*, 1996).

#### 2.1.2.1 Uréia

A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos, sua concentração sanguínea sendo empregada na avaliação da função renal (COLES, 1984; LOPES *et al.*, 1996; KANEKO *et al.*, 1997; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

Fisiologicamente, o nível sanguíneo de uréia está aumentada quando a dieta é muito rica em proteínas, sendo este um fator extra-renal que interfere na concentração sérica sendo indicador de ingestão protéica. Portanto, em animais com uremia é recomendado repetir o exame após jejum de 12 horas (COLES, 1984; LOPES *et al.*, 1996; KANEKO *et al.*, 1997). De modo geral, a uréia é um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína, enquanto que a albumina é um indicador a longo prazo do estado protéico na alimentação. A determinação da uréia em fluidos biológicos é um importante parâmetro para diagnósticos clínicos do funcionamento renal, além de ser um dos indicativos da condição nutricional dos animais. O aumento da uréia sérica sem aumento de creatinina constitui elevação fisiológica e de origem pré-renal podendo ter como causa a maior ingestão protéica (OLIVEIRA *et al.*, 2005; LOPES *et al.*, 1996; LUCA e REIS, 2001; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

#### 2.1.2.2 Creatinina

A biossíntese da creatinina, uma substância formada durante o metabolismo muscular da creatina, não é influenciada pela dieta e como existem poucos fatores extra-renais que podem influenciar sua concentração, tem sido reputada como uma prova de maior especificidade para o diagnóstico e o prognóstico das enfermidades renais progressivas. Os níveis de concentração de creatinina no sangue tem sido utilizados para avaliação da filtração glomerular uma vez que sua excreção é

realizada apenas por via renal, não sendo reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo (COLES, 1984; DITTRICH *et al.*, 2003; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular. A creatina é um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante. A conversão de fosfocreatina em creatinina é uma reação não enzimática e irreversível (BRAUN *et al.*, 2003; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

### 2.1.3 Outras análises bioquímicas

Os testes bioquímicos podem ser usados para detectar várias anormalidades hepáticas, incluindo necrose e lesões nos hepatócitos, alterações nas funções hepáticas e colestase (LATIMER *et al.*, 2003). É indicado utilizar em cães a determinação da alanina aminotransferase (ALT) e da aspartato aminotransferase (AST) na lesão hepatocelular aguda e a fosfatase alcalina (FA) na colestase (LOPES *et al.*, 1996).

As concentrações das enzimas hepáticas aumentam na circulação à medida que são liberadas pelas células de origem, essas liberações ocorrendo em várias situações como inflamação, degeneração celular e necrose celular (LOPES *et al.*, 1996). Segundo DEVLIN (2000) quando há incremento de aporte protéico, apesar de cada grupo de aminoácidos possuir um caminho metabólico próprio de degradação, há um mecanismo comum de remoção do nitrogênio da molécula, através da ação das transaminases (ALT e AST).

#### 2.1.3.1 Alanina aminotransferase (ALT)

A alanina aminotransferase (ALT) ou TGP é utilizada no diagnóstico de necrose hepática, por estar presente no citoplasma dos hepatócitos. Em primatas, cães, gatos, coelhos e ratos, a ALT é indicador sensível de lesão no hepatócito (KANEKO *et al.*, 1997).

Embora a concentração elevada de ALT no soro seja freqüentemente sinal de doença hepática, estes dados devem ser interpretados conjuntamente com outros sinais clínicos (SWANSON *et al.*, 2004). Os testes que medem a atividade desta

enzima sérica podem ser considerados como válidos para indicar uma lesão hepática apenas em cães e gatos e não em ruminantes (LOPES *et al.*, 1996).

#### 2.1.3.2 Aspartato aminotransferase (AST)

A aspartato aminotransferase (AST) ou TGO, enzima localizada nas mitocôndrias, é utilizada no diagnóstico de doenças hepáticas e musculares dos animais domésticos (KANEKO *et al.*, 1997).

#### 2.1.3.3 Fosfatase alcalina

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima (glicoproteína) de membrana e utilizada para diagnóstico de colestase, ou seja, o retardamento ou interrupção do fluxo nos canais biliares. A FA pode ser encontrada em vários tecidos, principalmente ósseo, sistema hepato-biliar e mucosa gastrointestinal de cães (LOPES *et al.*, 1996; KANEKO *et al.*, 1997; BACILA, 2003). Há três isoenzimas de FA no soro canino, incluindo FA óssea, FA hepática e FA induzida por corticosteróide (KANEKO *et al.*, 1997).

A elevação da concentração de FA no sangue pode ser devido às patologias que lesem os ductos hepáticos, como a colestase intra e extra-hepáticas. É bastante utilizada para confirmar colestase em cães, pois nesta espécie a FA sérica aumenta consideravelmente em caso de obstrução dos canalículos biliares e tem vida média de três dias (LOPES *et al.*, 1996).

#### 2.1.3.4 Colesterol

O colesterol é um dos lipídios plasmáticos mensuráveis e é encontrado em animais, sendo sintetizado e catabolizado no fígado. O colesterol é o precursor dos hormônios esteróides, da vitamina D e dos ácidos biliares entrando também na constituição da membrana celular. Hipercolesterolemia pode ser causada por dieta podendo ocorrer em razão da ingestão de produtos animais (POTTER *et al.* 1993; WILLARD *et al.*, 1994; KANEKO *et al.*, 1997; LATIMER *et al.*, 2003).

Fatores que alteram a concentração plasmática de colesterol são: exercícios, dieta e ciclo reprodutivo. O colesterol circula no plasma ligado a lipoproteínas, sendo

que 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. As desordens metabólicas de colesterol herdadas ou primárias são raras em animais domésticos, com exceção dos cães Schnauzer miniatura (LATIMER *et al.*, 2003; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

O colesterol é excretado pela bile, na forma de ácidos biliares, ou na urina, na forma de hormônios esteróides. Em animais monogástricos é recomendável que as coletas para dosar colesterol sejam feitas após jejum de 12 horas (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

## 2.2. HEMATOLOGIA

### 2.2.1 Eritrograma

O eritrograma de acordo com JAIN (1993) pode ser dividido em contagem do número de hemácias, concentração de hemoglobina, porcentagem de hematócrito e determinação dos índices hematimétricos (volume corpuscular médio e concentração corpuscular média). A diminuição dos parâmetros do eritrograma indica anemia (LATIMER *et al.*, 2003).

A hemoglobina é uma proteína conjugada, composta por uma proteína simples, a globina, e um núcleo, o heme, cujo principal componente químico é o ferro (JAIN, 1993; GARCIA-NAVARRO e PACHALY, 1994). A hemoglobina possui elevada afinidade pelo oxigênio sendo essencial para manutenção da vida. A medida da concentração de hemoglobina constitui a avaliação mais comum da situação nutricional do organismo. A carência protéica pode interferir com a biossíntese de hemoglobina, resultando no desenvolvimento de anemia. Tais condições podem ser observadas clinicamente em animais nos quais tenha havido uma perda de proteínas séricas considerável, ou inadequada ingestão ou digestão protéica (COLES, 1984; ETTINGER, 1992; JAIN, 1993; SZARFARE *et al.*, 1995).

Hematócrito é a porcentagem de hemácias do sangue, que são as células transportadoras de hemoglobina (LATIMER *et al.*, 2003).

Os índices eritrocitários VCM (volume corpuscular médio) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) devem ser interpretados em conjunto com a morfologia da hemácia. Os índices eritrocitários são utilizados para avaliar o grau de anemia. O aumento do VCM é um indicador de que a medula óssea

está respondendo à perda de hemácias ou hemólise. O aumento do índice de CHCM é normalmente resultado de hemólise *in vitro* ou *in vivo*. Um verdadeiro aumento de CHCM não ocorre, pois a elevação da concentração de hemoglobina não existe sem a célula. A diminuição do CHCM ocorre na diminuição da concentração de hemoglobina, quando as hemácias se tornam hipocrômicas (COLES, 1984; JAIN, 1993; LATIMER *et al.*, 2003).

Os seguintes fatores podem influenciar a concentração e a composição dos eritrócitos: espécie, sexo, gestação, lactação, idade, nutrição e devem ser considerados ao interpretar dados experimentais e clínicos em cães (COLES, 1984; JAIN, 1993; LATIMER *et al.*, 2003; SWANSON *et al.*, 2004).

Em coiotes (*Canis latrans*) mantidos em cativeiro, os valores médios da hemoglobina foram superiores aos valores dos animais de vida livre, sendo provavelmente reflexo da nutrição (SMITH e RONGSTAD, 1980, DITTRICH *et al.*, 2003).

Adequada eritropoiese de maneira geral necessita de células precursoras, microambiente e nutrientes como as vitaminas do complexo B e minerais como o ferro (JAIN, 1993; LATIMER *et al.*, 2003), proteínas e lipídios (GARCIA-NAVARRO e PACHALY, 1994).

As deficiências vitamínica ou mineral ou ambas, por qualquer causa, podem conduzir à anemia (JAIN, 1993), especialmente aquelas causadas por deficiência de vitamina B12, folato, niacina, vitamina E, selênio, cobre e cobalto (SZARFARE *et al.*, 1995). Para VAL BICALHO e CARNEIRO (2002), as vitaminas riboflavina (B2), niacina, piridoxina (B6), folato, tiamina e a vitamina B12 são indispensáveis ao perfeito desenvolvimento animal, sendo esta última extremamente necessária à divisão das fases nucleadas das células. Porém, deficiências de niacina, vitamina B6 ou riboflavina não constituem causas de anemia de ocorrência natural em cães (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

O ferro é o mineral mais importante utilizado na síntese do grupamento heme (KANEKO, 2000; VAL BICALHO e CARNEIRO, 2002). Em torno de 70% do ferro do organismo do animal se encontra na hemoglobina (ETTINGER, 1992). Segundo ENGEL *et al.*, (2003) existem duas formas de ferro provenientes da dieta: (1) forma hemínica, proveniente de alimentos de origem animal, (2) forma não-hemínica, derivada de alimentos de origem vegetal. Na primeira forma, é a própria molécula hemínica que é absorvida pela mucosa intestinal, enquanto que na forma não-



hemínica é absorvido o íon ferroso. A forma hemínica é bem melhor absorvida do que a forma não-hemínica, além de não sofrer qualquer influência de outras substâncias alimentares. A absorção do ferro não-hemínico é influenciada pela composição dos alimentos.

Outros minerais importantes na síntese do heme são o cobalto, que é necessário para a síntese da vitamina B12 e o cobre que é um co-fator da enzima ALA-desidrogenase (VAL BICALHO e CARNEIRO, 2002).

A anemia decorrente da deficiência nutricional raramente ocorre como entidade isolada nos animais domésticos. É mais comumente relacionada com condições patológicas que resultam em anorexia, debilitação ou alterações metabólicas afetando a digestão ou a absorção de nutrientes (COLES, 1984).

Recentemente houve crescente melhoria na formulação da alimentação dos animais domésticos, eliminando a anemia resultante diretamente da deficiência dietética. Porém a manifestação desse tipo de anemia pode ocorrer nos animais por erro na preparação dos alimentos ou com a interação com outras desordens, tais como as gastroenteropatias (WATSON e CANFIELD, 2000).

## 2.2.2 Leucograma

Os leucócitos dos mamíferos incluem os neutrófilos segmentados, monócitos, eosinófilos, basófilos e linfócitos. Todos participam da defesa do organismo, mas cada qual é independente cinética e funcionalmente (DUNCAN e PRASSE, 1982; LATIMER *et al.*, 2003). Os granulócitos: neutrófilos, eosinófilos e basófilos e agranulócitos monócitos são produzidos na medula óssea por um processo de proliferação e de maturação celular. Os agranulócitos linfócitos são produzidos em órgãos linfóides (JAIN, 1993).

### 2.2.2.1 Neutrófilos

Os neutrófilos são granulócitos formando a primeira linha de defesa celular contra infecções microbianas. São produzidos na medula óssea e distribuídos no sangue na forma madura (neutrófilo segmentado). O neutrófilo bastonete é uma forma imatura, estando presente na circulação em pequeno número (JAIN, 1993).

Os neutrófilos constituem a primeira linha de defesa do organismo em razão de três funções básicas desenvolvidas por essas células: aderência, quimiotaxia e fagocitose (LOPES *et al.*, 1996).

Existem estudos da influência da nutrição na função neutrofílica em grandes animais. ANDREASEN e ROTH (2000) descreveram que em ruminantes a deficiência nutricional incluindo deficiência de cobre, cobalto, selênio, molibdênio, tiamina e enxofre está relacionada com o aumento de infecções e diminuição da função dos neutrófilos.

#### 2.2.2.2 Linfócitos

A linfopoiese, ou seja, a produção de linfócitos ocorre na medula óssea e órgãos linfóides (JAIN, 1993). As células com características morfológicas de linfócitos apresentam ampla variedade de funções no sistema imunitário (ETTINGER e FELDMAN, 2004). De acordo com o mecanismo de ação no processo imunológico os linfócitos são chamados de “linfócito T” (imunidade celular) e “linfócito B” (imunidade humoral). A diferenciação entre os tipos de linfócitos pode ser feita por diferentes técnicas dentre as quais estão a imunogenética, a microscopia eletrônica e a citoquímica (LOPES *et al.*, 1996), não sendo diferenciados pela microscopia óptica de rotina, porém muitos dos linfócitos no sangue podem ser descritos como linfócitos T de memória de vida longa, recirculantes e de pequeno diâmetro (ETTINGER, 1992).

#### 2.2.2.3 Monócitos

O monócito é uma célula que está envolvida na fagocitose e morte de bactérias, vírus, fungos e protozoários (ETTINGER e FELDMAN, 2004). Os monócitos derivam da medula óssea, circulam por curto período e transformam-se em macrófagos nos tecidos (DUNCAN e PRASSE, 1982).

#### 2.2.2.4 Eosinófilos

A produção e a liberação de eosinófilos são reguladas por linfocinas produzidas por linfócitos T-fator estimulador de colônia eosinofílica (Eos-CSF),

eosinofilopoietina e fator de liberação de eosinófilos (JAIN, 1993). Tanto em processos parasitários quanto em alérgicos há interação de linfócitos, mastócitos, basófilos e eosinófilos, sendo que os linfócitos T e os mastócitos produzem eosinofilopoietina que age na medula óssea aumentando a formação de eosinófilos (WILLARD *et al.*, 1994).

Embora os eosinófilos possam viver até duas semanas nos tecidos sob a influência das citocinas, permanecem somente algumas horas no sangue (LILLIEHÖÖK e TVEDTEN, 2003).

Os eosinófilos possuem propriedades parasitocidas que dependem de anticorpo ou complemento (DUNCAN e PRASSE, 1982). São atraídos ao tecido inflamado por produtos de mastócitos e linfocinas. Mastócitos e linfócitos reconhecem alérgenos ou parasitas nos tecidos, agindo como uma sentinela para detectar e responder à sua presença. Os mastócitos atacam especificamente o parasita ou o alérgeno pela IgE ou IgG dos linfócitos B. Os eosinófilos regulam o efeito dos mastócitos fagocitando os grânulos dos mastócitos, inibindo a degranulação e neutralizando mediadores. O eosinófilo destrói o parasita, atacando-o e formando um vacúolo digestivo entre si e o parasita (WILLARD *et al.*, 1994).

A eosinofilia é de comum ocorrência em cães (SCHULTZE, 2000). A eosinofilia, em geral, se desenvolve em resposta a estímulos específicos, incluindo doenças parasitárias, alergias ou outras reações de hipersensibilidade e vários agressores tissulares. Os eosinófilos contribuem para a defesa do hospedeiro porque participam da morte de alguns parasitas, melhoram as respostas inflamatórias pela inativação de mediadores químicos e participam das respostas antitumorais (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

Os processos alérgicos devem ser considerados na interpretação da eosinofilia (BARGER, 2003). Em algumas áreas, os animais podem apresentar eosinofilia em certas épocas do ano, devido a alérgenos no ambiente e à carga de parasitas (MEINKOTH e CLINKENBEARD, 2000).

Além da eosinofilia, outros termos que descrevem elevações quanto ao número de eosinófilos devem ser considerados, tais como: “hipereosinofilia”, uma excessiva eosinofilia, valores acima de 5000/ $\mu$ l; “reação leucemóide”, caracterizada por valores similares às elevações no número de células por neoplasias como 34.000/ $\mu$ l; “leucemia eosinofílica”, isto é, proliferação neoplásica de eosinófilos;

“síndrome hipereosinofílica”, ou seja, eosinofilia persistente de causa indefinida (LILLIEHÖÖK e TVEDTEN, 2003).

#### 2.2.2.5 Basófilos

Os basófilos estão presentes em baixo número ou estão ausentes no sangue dos cães e gatos normais. Os basófilos contém proteoglicanos e histamina e parecem exercer um papel nas reações imunomediadas, em especial na anafilaxia e na indução das reações de hipersensibilidade imediata ou respostas de hipersensibilidade a parasitas ou alérgenos (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

A diminuição de basófilos ainda não está bem esclarecida, mas há evidência de que estas células realizam resposta de hipersensibilidade tipo 1. Atuam também na homeostasia (SCOTT e STOCKHAM, 2000). A elevação no número de basófilos pode ocorrer pelas mesmas causas da eosinofilia, ou associada à lipemia. A eosinofilia geralmente acompanha a basofilia como parte do processo mediado por IgE, eosinófilo e basófilo/mastócito (WILLARD *et al.* 1994).

A formação de basófilos parece ser antígeno-específica e regulada por IL-3 e por uma linfocina basofílica específica (basofilopoietina) produzida por linfócitos T (JAIN, 1993). A basofilia está presente quando essas células excedem 200-300/ $\mu$ L (SCOTT e STOCKHAM, 2000; LATIMER *et al.*, 2003).

#### 2.2.2.6 Interação basófilos-eosinófilos

O número aumentado de eosinófilos e de basófilos pode ser encontrado em adultos de várias espécies, provavelmente por mudanças imunológicas, especialmente depois de estados de parasitismo (JAIN, 1993). Basófilos e eosinófilos participam juntos da reação inflamatória (SCOTT e STOCKHAM, 2000).

A basofilia (aumento no número de basófilos) é freqüentemente associada com a eosinofilia, sendo esta descrita como aumento no número de eosinófilos além do valor de referência (LILLIEHÖÖK e TVEDTEN, 2003; ETTINGER e FELDMAN, 2004).

## 2.3 RAÇÃO CANINA

A espécie canina é classificada como carnívora, caracterizada por apresentar digestão principalmente enzimática, orientada para digerir proteínas e gorduras (CASE *et al.*, 1995). Há dois tipos de alimentação de animais de companhia: a caseira e a industrializada. Nos Estados Unidos da América 92% dos proprietários preferem as dietas industrializadas (LEWIS *et al.*, 1994).

Segundo PRIOR (2003) a importância da ração na alimentação de cães no Brasil, pode ser mostrada em termos numéricos. Em 1994 foram comercializadas 220.000 toneladas de ração e em 2002 este número chegou a 1.234.000 toneladas. O autor relata que o Brasil é o primeiro mercado produtor de alimentos balanceados para animais de estimação na América Latina e o terceiro no mundo. No mercado brasileiro encontram-se muitas rações equilibradas nutricionalmente, porém com diferentes matérias primas, ingredientes e variações no processo de industrialização, tudo isto refletindo no preço final, e em sua qualidade. A industrialização de alimentos para cães e gatos é relativamente recente, pois a partir dos meados da década de 90 é que o consumo de alimentos industrializados passou a crescer de forma expressiva. CARNIGLIA (2003) afirma que este crescimento ocorre devido ao aumento do poder econômico, mudanças dos hábitos da sociedade, importância adquirida dos animais de estimação, desenvolvimento comercial e *marketing*. O Brasil é o país sul americano que possui a maior diversidade e originalidade no aspecto físico de rações, incluindo ingredientes e processamentos variados, o que reflete no preço final para o consumidor (LEWIS *et al.*, 1994; PRADA 2002; CARNIGLIA, 2003; FORTES, 2005).

A indústria de alimentos do animal de estimação procura constantemente por maneiras de melhorar a saúde e a qualidade de vida, pois a nutrição adequada é determinante na longevidade (HAMMER e QUIGLEY, 2003). Um cão alimentado com uma dieta corretamente balanceada possui melhores chances de vencer os desafios impostos à sua saúde, desfrutando de uma vida mais saudável por mais tempo. Por isso as rações comerciais devem conter ingredientes adequados (TAYLOR *et al.*, 1995; MURRAY *et al.*, 1998; SILVA Jr *et al.*, 2005).

Nos EUA e na Europa vários trabalhos com alimentos para animais de estimação foram realizados, enquanto que no Brasil, os dados são escassos. Os temas principais das pesquisas estão voltados para o lado da palatabilidade ou

digestibilidade dos alimentos ou, então, na redução de custos e barateamento do produto final (PRADA, 2002).

As proteínas são importantes constituintes da alimentação dos cães, sendo fornecidas através de ingredientes que podem ser de origem vegetal, animal ou uma combinação de ambos (CASE *et al.*, 1995; PATIL e FAHEY Jr, 1999). Os ingredientes protéicos em alimentos industrializados para cães representam em média 30% de sua composição nutricional e acabam por onerar as rações, especialmente quando se considera aspectos relativos à digestibilidade e ao equilíbrio de aminoácidos dos ingredientes (CARCIOFI, 2002). Além do aspecto quantitativo das proteínas deve-se levar em conta o aspecto qualitativo, isto é, o seu valor nutritivo (FORTES, 2005). Segundo HEGEDUS *et al.*, (1998). O índice de proteína bruta de amostras de rações para cães, não revela qualquer correlação com os índices da qualidade de proteína, indicando que a informação da proteína bruta não é suficiente para julgar a qualidade de proteína de alimentos de cão.

O grão de soja é uma fonte suplementar barata e benéfica de proteína para alimentos de animais. Por consequência, é incluído freqüentemente em alimentos comerciais caninos (YAMKA *et al.*, 2003). A proteína de soja quando combinada com outras fontes da proteína que contêm aminoácidos complementares pode fornecer uma fonte econômica da proteína altamente disponível e de consistente qualidade (CLAPPER *et al.*, 2001).

As informações nutricionais das rações estão impressas em seus rótulos. Segundo a legislação brasileira a proteína, o extrato etéreo e o fósforo, compostos de nutrientes mais caros, devem ser garantidos como quantidades mínimas enquanto que a umidade, fibra, matéria mineral e o cálcio, que além de ser baratos poderiam depreciar o valor do alimento, como teores máximos. Desta forma não são expressas as concentrações nutricionais exatas, mas apenas um panorama geral da composição centesimal do alimento (CARCIOFI, 2005).

A Instrução Normativa publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA, 2002) que proporcionou um grande avanço na regulamentação do mercado *Pet Food* fixa e identifica as características mínimas de qualidade a que devem obedecer os alimentos completos e especiais para cães e gatos. Os níveis de garantia exigidos para os alimentos completos estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1 - NÍVEIS DE GARANTIA PARA ALIMENTOS COMPLETOS PARA CÃES ADULTOS

Componentes	Alimento Seco (%)
Umidade (máximo)	12,0
Proteína bruta (mínimo)	16,0
Extrato etéreo (mínimo)	4,5
Matéria fibrosa (máximo)	6,5
Matéria mineral (máximo)	12,0
Cálcio (máximo)	2,4
Fósforo (mínimo)	0,6

FONTE: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2002.

As proteínas são macromoléculas cujos constituintes são os aminoácidos. Durante a digestão das proteínas, os aminoácidos são liberados podendo atravessar a barreira intestinal, sendo utilizados, prioritariamente, no anabolismo: síntese de proteínas e outras moléculas nitrogenadas. Os aminoácidos circulam no sangue e são utilizados pelas células, os excedentes são convertidos em outros componentes ou transformados em uréia pelo fígado, que é excretada pelo rim. As proteínas são importantes para o crescimento e reparo do tecidos (SWENSON e REECE, 1996).

Os lipídeos alimentares são ésteres de ácidos graxos e de glicerol, um deles sendo essencial: ácido linoléico. Contribuem para o aumento da palatabilidade do alimento. A sua função no organismo é fornecer energia e transportar vitaminas (SWENSON e REECE, 1996).

Os constituintes de base dos carboidratos são as oses, açúcares simples. O mais importante é a glicose. Os carboidratos são utilizados como fonte de energia (SWENSON e REECE, 1996). Para digerir o amido, o cão não dispõe de amilase salivar, mas possui amilase pancreática. O cão necessita de fibras, mesmo não sendo assimiladas, para efeito regulador do trânsito intestinal, fibras essas que também são substratos de fermentação bacteriana no intestino grosso e contribuem para seu equilíbrio. Os oligossacarídeos (não digestíveis) provenientes de vegetais são fermentados no intestino grosso sendo a origem das flatulências. Os alimentos formulados com grandes quantidades de matérias-primas de origem vegetal, ricas em fibras e fitatos, podem levar à carência de elementos essenciais, uma vez que existem as interações com alguns minerais. O equilíbrio é necessário para evitar deficiências (ANDRIGUETTO *et al*, 1985).

O excesso de cálcio pode diminuir a biodisponibilidade de micro-elementos como zinco, fósforo e iodo. O desequilíbrio na formulação da dieta pode causar



menor aproveitamento dos minerais e deficiências (LEWIS *et al.*, 1994; KANEKO *et al.*, 1997; FRASER, 1991; CARCIOFI, 2005).

## 2.4 EXTRATO DE *Yucca schidigera*

A *Yucca schidigera*, (Figura 1) é uma planta nativa do deserto do sudoeste dos Estados Unidos da América e parte do México (HEADON *et al.*, 1991). Possui alto teor de saponinas e glicocomponentes (RYAN *et al.*, 2003) que têm a propriedade de fixar e desta forma, reduzir os níveis de amoníaco, nitrogênio sulfurado e outros gases nocivos nos processos metabólicos animais e no ambiente (HEADON e DAWSON, 1990; HEADON, 1991).

As saponinas contém, geralmente, carboidratos como glicose, galactose, ácido glicurônico, xilose, rhamnose, ou metilpentose, ligados à sapogenina. Podem ser glicosídeos esteróis ou triterpenos tensoativos. Ocorrem em pelo menos 400 espécies de plantas pertencentes a 60 famílias diferentes, mas somente cerca de 28 são usadas como alimento, como por exemplo, soja, grão-de-bico, amendoim e espinafre. Muitas saponinas diferentes podem ocorrer dentro de uma única espécie de planta. As saponinas tem grande atividade como surfactantes, ou seja, diminuem a tensão superficial. Esta propriedade parece ser importante na absorção dos nutrientes pela mucosa intestinal (BANGHAM e HORNE, 1962; GEORGE, 1965; GRUNWALD, 1974; OAKENFULL, 1981; RYAN e QUINN, 1999; FRANCIS *et al.*, 2002).

Devido às suas propriedades emulsificantes as saponinas são usadas na manufatura de alimentos, bebidas, preparações farmacêuticas, cosméticos e como agentes agregadores em substâncias flavorizantes de alimentos (GEORGE, 1965).

As saponinas tem ação antimicrobiana, previnindo o crescimento de fungos, podendo ser consideradas uma parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como “fitoprotetoras” (MORRISSEY e OSBOURN, In: FRANCIS *et al.*, 2002). Possuem ação antifúngica (MIYAKOSHI *et al.*, 2000). O mecanismo principal sugerido para esta atividade é a interação com os esteróis da membrana (FRANCIS *et al.*, 2002). Além destes benefícios tem-se demonstrado também que a adição de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) na dieta de frangos de corte, vacinados contra coccidiose, melhora o ganho de peso e de conversão alimentar, reduzindo o impacto da vacina sobre o desempenho dos animais (SANTIN *et al.*, 2004).



A *Yucca schidigera* é a fonte comercial mais comum de saponinas esteróides que contém em sua formação vários glicosídeos (KANEDA *et al.*, 1987; McCRORY e HOBBS, 2001; FRANCIS *et al.*, 2002).



Fonte: USDA, NRCS. (2006)

Os extratos e as preparações de *Yucca schidigera* foram relatados por AMON *et al.*, (1995) e BAIDOO (2000) como redutores de níveis de amônia gastrointestinal ou fecal em porcos, aves domésticas e bovinos leiteiros. HEADON *et al.*, (1991) citaram que o modo de ação do YSE é especialmente por ligar-se à amônia. Os benefícios do uso de YSE na redução e ou eliminação do odor das fezes de cães, pode advir da diminuição da produção ou da disponibilidade de amônia e de gás sulfídrico no intestino grosso. O odor fecal pode ser influenciado pela quantidade aumentada de proteína na dieta. A concentração de amônia é maior em cães que consomem dieta à base de proteína animal do que dietas à base de proteína vegetal (GIFFARD *et al.*, 2001; HESTA *et al.*, 2003; KUZMUK *et al.*, 2005).

A amônia ambiental é um fator de risco para pessoas que trabalham com grandes populações de animais criados sob condições de confinamento como por exemplo: suínos e aves e sendo esta fator de doenças também para os próprios animais. Este risco foi diminuído, quando da adição da YSE à dieta nessas espécies (HEADON *et al.*, 1991; COLINA *et al.*, 2001).

Para animais de laboratório, o uso de YSE evita problemas respiratórios e de pele que poderiam interferir nos experimentos (SUAREZ e ALONSO, 1991). Para LOWE (1991) o YSE pode ser utilizado para redução do odor fecal de cães e gatos devido a sua proximidade dos seres humanos. Neste sentido LOWE e KERSHAW, (1997a) observaram uma melhora significativa do odor fecal canino e felino quando produtos com YSE são incluídos na ração. Além do odor das fezes dos animais de companhia ser uma característica indesejável para os proprietários dos cães, a elevada concentração de amônia e de gás sulfídrico causa problemas à saúde de animais em ambientes fechados, retardando o seu desenvolvimento e aumentando a susceptibilidade a várias doenças (HEADON, 1991; WHEELER, 1993).

O uso de YSE na formulação das rações pode melhorar o desempenho animal e a qualidade do ar nos galpões e em outros locais de confinamento, especialmente devido à redução da concentração da amônia. Segundo HEADON (1991), o nitrogênio, na forma de amônia, é altamente volátil e muito tóxico para plantas e animais.

#### 2.4.1 Efeito do YSE nos parâmetros hematológicos

Em alguns trabalhos utilizando cães beagle e gatos LOWE e KERSHAW (1997 a b), verificaram que a adição de YSE na dosagem de 250 mg/Kg durante 21 dias não alterou as contagens hematológicas e reduziu o odor das fezes. Esses autores afirmaram em que a utilização de YSE não afeta a condição geral desses animais.

#### 2.4.2 Efeito do YSE nos componentes bioquímicos do sangue

Não foram encontradas referências do uso de YSE sobre os parâmetros bioquímicos em cães, entretanto, em codornas, a proteína total sérica não foi afetada

pela adição de YSE na dieta e a albumina sérica foi reduzida quando 100 ppm de YSE em pó foi adicionada na dieta (KAYA *et al.*, 2003).

Em ratos PRESTON *et al.*, (1987) e KILLEN e DUFFY (1996) verificaram que o uso de YSE na ração diminui a concentração de uréia sérica. LOWE e KERSHAW (1997a) verificaram que o uso de YSE em dietas para gatos pode ser responsável pelo aumento do teor de uréia sangüínea. Em suínos COLINA *et al.*, (2001) não observaram diferenças na concentração plasmática de uréia nem no nitrogênio fecal de animais que receberam YSE na dieta, em comparação com animais de ração sem a adição de YSE.

As saponinas dietéticas da *Yucca* tanto isoladas como adicionadas em alimentos, diminuíram a concentração do colesterol plasmático em diversas espécies de mamíferos (OAKENFULL, 1981). Saponina é conhecida por seu efeito de redução do colesterol sanguíneo, pois forma complexos insolúveis com o colesterol, prevenindo a sua absorção no intestino delgado. Outra causa da redução do colesterol está associada ao aumento da excreção fecal biliar, uma via indireta de excreção de colesterol (SIDHU e OAKENFULL, 1986). O conhecimento da natureza da interação entre saponina e colesterol é essencial para o estabelecimento da dose dietética eficaz da saponina que poderia ter efeito na redução da concentração de colesterol no sangue (FRANCIS *et al.*, 2002). Em animais de laboratório alguns experimentos enfatizaram os resultados sobre os parâmetros bioquímicos sanguíneos quando da utilização de saponinas, reduzindo a concentração de colesterol no plasma (BARTHOLOMAI *et al.*, 2000).

As saponinas naturais e sintéticas inibem a absorção de colesterol e reduzem a concentração do colesterol do plasma em animais de laboratório e são utilizadas por seu potencial farmacológico no tratamento da hipercolesterolemia (HARWOOD Jr *et al.*, 1993).

#### 2.4.3 Toxicidade

As saponinas têm ação lítica nas membranas das hemácias. Essa hemólise provavelmente é o resultado da afinidade com o colesterol da membrana. As saponinas esteróides (*Yucca schidigera*) e as triterpenóides monodesmóides possuem atividade hemolítica forte em comparação com as triterpenóides bidesmóides (LINDNER, 1995; FRANCIS *et al.*, 2002).

Efeitos tóxicos da *Yucca* em mamíferos foram relatados por BARTHOLOMAI *et al.* (2000) quando utilizada exclusivamente pela via endovenosa, sendo a toxicidade muito menor por via oral. Segundo estes autores, este fato é devido à sua dificuldade em ser absorvida pela parede intestinal e penetrar na corrente sanguínea.

Para RYAN e QUINN (1999) a saponina não é tóxica para cães quando ingerida, por não ser absorvida pelo trato digestivo devido a sua estrutura química.

Portanto, com o objetivo de avaliar o efeito da adição de extrato de *Yucca schidigera* na ração sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos em cães adultos de raça grande (Fila, Pastor Alemão e Rottweiler) foram conduzidos dois experimentos.



### 3.1 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 EXPERIMENTO I

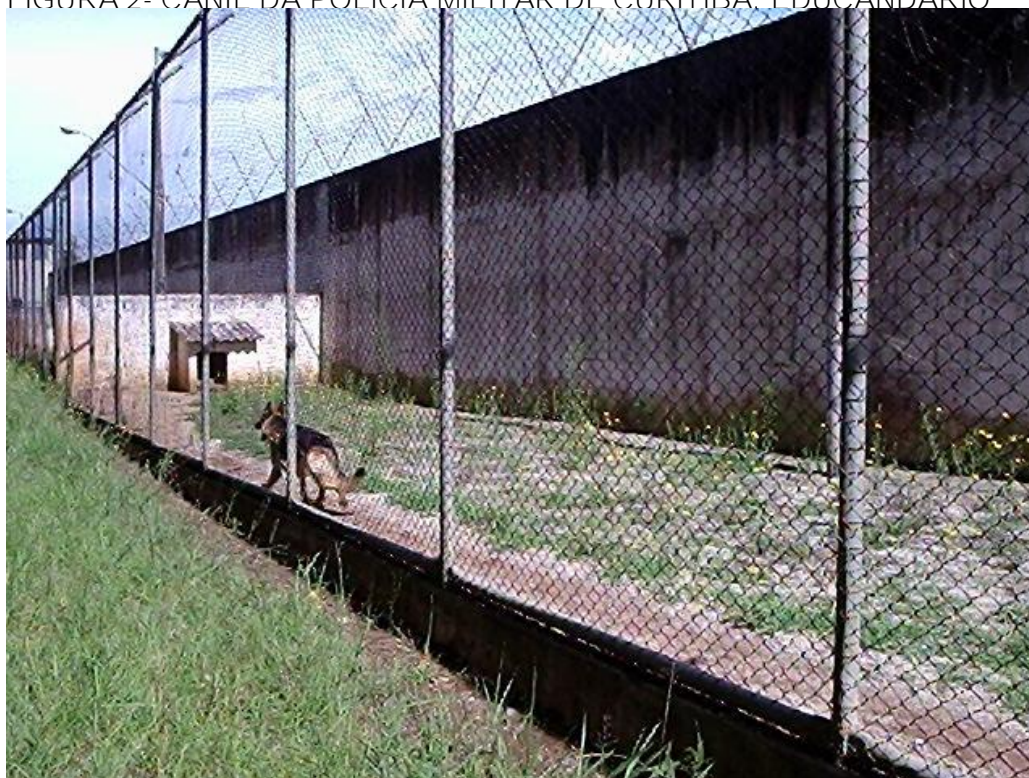
##### 3.1.1 Animais

Foram utilizados 17 cães policiais adultos (2 a 6 anos) de raça grande (Pastor Alemão, Fila e Rottweiler) sadios, vacinados e desverminados, de ambos sexos e pesos médio de 40 Kg. Os animais permaneceram em baias individuais, provenientes do Canil da Polícia Militar de Curitiba, localizado no Educandário São Francisco de Piraquara (Figura 2).

A atividade física dos animais dos tratamentos foi semelhante, constituído de trabalho de guarda dos quartéis, rondas e treinamentos. Os animais que constituíram os tratamentos experimentais foram submetidos a avaliações clínicas no momento das colheitas de sangue.

Anterior ao início da fase experimental, os animais foram desverminados e vacinados, conforme programa preventivo interno. A triagem dos cães constou de exame clínico, parasitológico de fezes e hemogramas prévios.

FIGURA 2- CANIL DA POLÍCIA MILITAR DE CURITIBA: EDUCANDÁRIO



### 3.1.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, os dados foram submetidos à análise de variância sendo aplicado teste de Tukey para comparação de médias, utilizando-se o programa *STATISTIX for Windows* versão 1.0, 1996. Os Tratamentos do Experimento I foram os seguintes:

Tratamento 1(n=9): ração 1 (R1) sem adição de Extrato de *Yucca schidigera* (YSE)<sup>1</sup>

Tratamento 2(n=8): ração 1 (R1) com adição de YSE

O período experimental foi de 60 dias, durante a primavera/verão de 2004.

### 3.1.3 Ração experimental

No experimento I foi utilizada a ração comercial 1 (Tabela 2) a qual foi analisada quimicamente no Laboratório de Nutrição - Departamento de Zootecnia UFPR. Vale salientar que os animais já consumiam esta ração sem o YSE por pelo menos um ano antes do experimento.

A adição de extrato de *Yucca schidigera* foi realizada da seguinte maneira: foi retirada uma amostra de 100g de ração a qual foi adicionado 2g de YSE. Esta mistura (102 g) foi adicionada à quantidade de ração total consumida por dia por animal, totalizando 1Kg de ração homogeneizada, durante 60 dias. A água foi fornecida a vontade. Não houve sobras de ração.

TABELA 2 - ANÁLISE QUÍMICA DA RAÇÃO DO EXPERIMENTO I (R1)<sup>2</sup>

Componentes	Análise laboratório* %	Dados da embalagem %
Umidade	7,12	9,0
Proteína Bruta	17,85	22,0
Extrato Etéreo	6,84	8,0
Fibra Bruta	3,44	3,5
Resíduo Mineral	9,29	8,0
Cálcio	2,40	1,2
Fósforo	1,14	0,9

Composição (fornecida na embalagem): farinha de carne de frango, arroz integral, milho integral moído, gordura de frango, cloreto de sódio, cloreto de colina, carbonato de cálcio, fosfato bicalcico, hidrolizado de frango, farelo de trigo, DL-metionina, premix mineral, premix vitamínico.

\*Laboratório de Nutrição - Departamento de Zootecnia UFPR

<sup>1</sup> Extrato de *Yucca schidigera*- De- Odorase® Alltech

<sup>2</sup> Ração 1: Jolly Dog® Sagemuller Ltda

## 3.2 EXPERIMENTO II

### 3.2.1 Animais

Foram utilizados 16 cães policiais adultos (2 a 6 anos) de raça grande (Pastor Alemão, Fila e Rottweiler) sadios, vacinados e desverminados, de ambos sexos e pesos médio de 40 Kg. Os animais permaneceram em baias individuais, provenientes do Canil da Polícia do Exército, localizado no Quartel General do Sul, no bairro Pinheirinho (Figura 3).

A atividade física dos animais dos tratamentos foi semelhante, constituído de trabalho de guarda dos quartéis, rondas e treinamentos. Os animais que constituíram os tratamentos experimentais foram submetidos a avaliações clínicas (exame clínico) no momento das colheitas de sangue.

Anterior ao início da fase experimental, os animais foram desverminados e vacinados, conforme programa preventivo interno. A triagem dos cães constou de exame clínico, parasitológico de fezes e hemogramas prévios.

FIGURA 3- CANIL DA POLÍCIA DO EXÉRCITO: QUARTEL GENERAL



### 3.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, os dados foram submetidos à análise de variância sendo aplicado teste de Tukey para comparação de médias, utilizando-se o programa *STATISTIX for Windows* versão 1.0, 1996.

Os animais do experimento foram divididos em dois tratamentos:

Tratamento 1(n=8): ração 2 (R2) sem adição de YSE

Tratamento 2(n=8): ração 2 (R2) com adição de YSE

O período experimental foi de 60 dias, durante a primavera/verão de 2004.

### 3.2.3 Ração experimental

No experimento II foi utilizada a ração comercial 2 (Tabela 3), que foi analisada quimicamente no Laboratório de Nutrição - Departamento de Zootecnia UFPR. Os animais já consumiam a ração por pelo menos um ano antes do experimento.

A adição de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) foi realizada da mesma maneira que no experimento I (descrita na página 30).

TABELA 3 - ANÁLISE QUÍMICA DA RAÇÃO DO EXPERIMENTO II (R2)<sup>3</sup>

Componentes	Análise laboratório* %	Dados da embalagem%
Umidade	10,15	12,0
Proteína Bruta	20,40	19,0
Extrato Etéreo	10,50	4,5
Fibra Bruta	3,48	6,0
Resíduo Mineral	13,55	12,0
Cálcio	3,74	2,0
Fósforo	1,75	0,8

Composição (fornecida na embalagem): farinha carne e ossos, farelo de soja, farelo de trigo, milho integral moído, farelo de germem de milho desengordurado, óleo de aves, óleo de milho, aditivo aromatizante, cloreto de sódio (sal comum), suplemento vitamínico e mineral.

\* Laboratório de Nutrição - Departamento de Zootecnia UFPR

<sup>3</sup> Ração 2: Canitos® Kowalski Ltda



### 3.3 COLHEITA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

As colheitas de sangue para hematologia e bioquímica foram feitas, com os animais em jejum, pela manhã, para evitar variações diurnas e lipemia pós-prandial, por venopunção jugular ou cefálica. Foram realizadas cinco colheitas, no 1º dia e aos 15, 30, 45 e 60 dias de experimentação. Foi colhido em cada animal um volume de 8,0 mL. As amostras de sangue foram acondicionadas em frasco contendo o anticoagulante ácido etileno-diaminotetracético (3,0 mL de sangue para 1 gota de EDTA a 10%) e frasco sem anticoagulante.

### 3.4 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXAMES DE SANGUE

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária do Setor de Ciências Agrárias da UFPR.

### 3.5 EXAMES LABORATORIAIS

Foram avaliados os parâmetros bioquímicos do sangue (proteína plasmática total, proteína sérica, albumina, globulina, ALT, AST, fosfatase alcalina, colesterol, uréia e creatinina) e hematológicos (número de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, leucócitos totais, segmentados, bastonetes, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) em todos os tratamentos.

#### 3.5.1 Bioquímica do sangue

As análises bioquímicas de sangue foram realizadas conforme COLES (1984). As concentrações bioquímicas foram determinadas seguindo protocolo de *kits*<sup>4</sup> específicos e medidas em aparelho semi-automático Celm SBA 200®, segundo a metodologia de cada *kit*.

---

<sup>4</sup> Bioclin®

- Proteína total (PT): método do Biureto
- Albumina: método de Verde de Bromocresol
- Colesterol: método de Colesterol Esterase
- Uréia: método da Urease
- Creatinina: método do Picrato Alcalino
- Fosfatase alcalina (FA): método cinético
- Aspartatoaminotransferase (AST): método cinético
- Alaninaminotransferase (ALT): método cinético

A globulina foi calculada segundo LOPES *et al.*, (1996). A proteína plasmática total foi determinada utilizando o refratômetro.

As amostras de soro foram separadas em alíquotas. Uma foi mantida sob refrigeração para utilização imediata e as demais foram mantidas sob congelamento (-20°C) até a análise.

### 3.5.2 Hemograma

Para determinação do hemograma foram utilizadas as técnicas de rotina descritas por JAIN (1993). As contagens totais de eritrócitos e de leucócitos e a determinação da concentração de hemoglobina foram realizadas com auxílio do contador automático de células (Celm CC 530/ DA 500®). O hematócrito foi determinado pelo método do microhematócrito e as concentrações de proteínas plasmáticas pelo método do refratômetro. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em esfregaços sanguíneos corados com corante de Wright<sup>5</sup> e média de 200 células.

O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados seguindo as fórmulas descritas por WINTROBE (1974). As lâminas foram confeccionadas nos momentos de coletas e no laboratório (sendo duas lâminas para cada hemograma). Os hemogramas foram determinados no prazo de 10 horas após a coleta de sangue exceto a leitura das lâminas, que foi realizado posteriormente.

---

<sup>5</sup> Laborclin®

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 EXPERIMENTO I

As médias dos resultados dos exames bioquímicos dos cães adultos de raça grande utilizados no experimento I estão apresentadas na Tabela 4.

TABELA 4- MÉDIAS DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R1 ADICIONADA OU NÃO DE YSE\*

Parâmetro Bioquímico	valores de referência**		
	R1 sem YSE	R1 com YSE	
Proteína plasmática total	6,76 ± 0,61	7,08 ± 0,39	6,0 - 8,0 g/dL
Proteína sérica total	6,75 ± 0,70	7,02 ± 0,50	5,4 - 7,1g/dL
Albumina	3,28 ± 0,27	3,26 ± 0,09	2,6 - 3,3g/dL
Globulinas	3,46 ± 0,66	3,71 ± 0,52	2,7 - 4,4g/dL
ALT <sup>1</sup>	43,37 ± 12,39	37,65 ± 10,81	12,0 – 88UI/L
AST <sup>2</sup>	37,12 ± 6,08	41,77 ± 8,89	12,0 – 88UI/L
Fosfatase alcalina	101,41 ± 67,96	124,40 ± 63,19	20,0 – 156UI/L
Uréia	27,21 ± 4,51	25,41 ± 4,82	20,0 -60,0mg/dL
Creatinina	1,42 ± 0,12	1,35 ± 0,08	0,5 - 1,5mg/dL
Colesterol	260,41 ± 69,61	304,16 ± 65,37	135,0 -270mg/dL

\* YSE indica extrato de *Yucca schidigera*

\*\* indica Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná

1 Alaninoaminotransferase

2 Aspartatoaminotransferase

A adição de YSE na ração não afetou ( $p>0,05$ ) nenhum dos parâmetros bioquímicos (proteínas plasmáticas totais, proteína sérica total, albumina, globulina, ALT, AST, fosfatase alcalina, uréia, creatinina e colesterol). Em outras espécies animais, como suínos, COLINA *et al.*, (2001) também não observaram diferença na concentração plasmática de uréia em animais que receberam YSE na dieta, assim como KAYA *et al.* (2003) observaram que a proteína total sérica em codornas não foi afetada pela adição de YSE na dieta. Entretanto, PRESTON *et al.*, (1987) e KILLEN e DUFFY (1996) verificaram que o uso de YSE na ração de ratos diminui a concentração de uréia sérica. Da mesma forma, LOWE e KERSHAW (1997a) verificaram que o uso de YSE em dietas para gatos demonstrou ser responsável pelo aumento do teor de uréia sanguínea.

Com relação ao colesterol sanguíneo alguns autores OAKENFULL, (1981); SIDHU e OAKENFULL, (1986); HARWOOD Jr *et al.*, (1993); BARTHOLOMAI *et al.*, (2000) e FRANCIS *et al.*, (2002) verificaram diminuição do colesterol sérico com o

uso de saponina na dieta em outras espécies de mamíferos. Entretanto neste experimento não se observou efeito significativo do uso da YSE sobre a concentração de colesterol sanguíneo em cães de raça grande adultos.

As médias dos resultados dos hemogramas dos cães adultos de raça grande utilizados no experimento I estão apresentadas na Tabela 5.

TABELA 5- MÉDIAS DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R1 ADICIONADA OU NÃO DE YSE\*

Parâmetro hemograma	valores de referencia**		
	R1 sem YSE	R1 com YSE	
Hemácias	7,88 ± 1,07	7,11 ± 0,52	5,5 – 8,5 x10 <sup>6</sup> /μL
Hemoglobina	18,79 ± 2,18	17,79 ± 1,36	12 – 18g/dL
Hematócrito	48,33 ± 4,93	46,95 ± 2,80	37 – 55%
VCM <sup>1</sup>	60,67 <sup>b</sup> ± 4,59	66,17 <sup>a</sup> ±1,87	60,0 – 77,0fl
CHCM <sup>2</sup>	37,98 ± 3,28	38,00 ±1,60	32,0 – 38,0
Leucócitos	12996 ± 3070,7	12878 ± 2362,6	6.000- 17.000/μL
Neutrófilos	8009 ± 2219,8	7868,2 ±1416,2	3000-11500/μL
Bastonetes	22,28 ± 34,26	20,67 ± 19,85	0-300/μL
Linfócitos	2863,5 ±797,03	2715,4 ± 665,05	1000-4800/μL
Monócitos	646,32 ± 302,77	599,88 ± 202,55	150- 1350/μL
Eosinófilos	1364,8 ± 588,51	1580,4 ± 833,97	100-1250/μL
Basófilos	116,34 ± 194,51	100,33 ± 131,42	0-300/μL

\* YSE indica extrato de *Yucca schidigera*

\*\* indica Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná

1 VCM indica Volume Corpuscular Médio

2 CHCM indica Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

a,b - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si a 5% de significância.

A adição de 2g/Kg de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) na ração elevou ( $p < 0,05$ ) o VCM. Entretanto os seguintes parâmetros: número de hemácias, concentração de hemoglobina e porcentagem de hematócrito estão de acordo com os valores de referência. Neste experimento não foram verificados sinais clínicos nem estatísticos de anemia. Segundo JAIN (1993) o VCM é utilizado para classificar anemia. Esses resultados concordam com LOWE e KERSHAW (1997b) que não verificaram alterações nas contagens hematológicas em cães beagle adultos alimentados 21 dias com rações adicionadas de YSE na dose de 250 mg/kg. O VCM é um parâmetro importante para avaliações a respeito do tamanho das hemácias, neste trabalho verificamos um valor aumentado de VCM o que poderia sugerir uma tendência à hemólise. Assim, para a confirmação desta é necessário que o

fornecimento da saponina seja feito por um período de tempo maior e/ou em doses crescentes.

No presente experimento nos dois tratamentos há eosinofilia, aumento de eosinófilos em relação com os valores de referência e presença de basófilos. Os basófilos são células que raramente são visualizadas no hemograma de cães. A basofilia, ou seja, aumento de basófilos, é freqüentemente associado com a eosinofilia (ETTINGER e FELDMAN, 2004). A presença de leve eosinofilia e basofilia nesse experimento sugere alterações ambientais, uma vez que outras causas foram descartadas, pois o parasitológico de fezes foi negativo. Os cães do experimento não apresentaram lesões que determinassem o aparecimento de eosinofilia descrito por ETTINGER (1992) e BARGER (2003), tais como: inflamação pulmonar, dérmica ou geniturinário e neoplasias evidentes. Ainda segundo BARGER (2003) os processos alérgicos devem ser considerados na interpretação dos resultados, pois para MEINKOTH e CLINKENBEARD (2000) em algumas áreas os animais podem apresentar eosinofilia em certas épocas do ano, devido a alérgenos no ambiente e carga de parasitas. Nesse sentido, outros estudos podem ser realizados para esclarecimento dessa hipótese, com hemogramas realizados em outras estações do ano como inverno.

#### 4.1.1 Conclusões do experimento I

A adição de extrato de *Yucca schidigera* na ração (2,0g/Kg) de cães não afetou os parâmetros bioquímicos (proteínas plasmáticas totais, proteína total, albumina, globulina, ALT, AST, fosfatase alcalina, uréia e creatinina colesterol) nem os parâmetros do hemograma, apesar do aumento do VCM sugerir tendência a hemólise. Os animais deste experimento apresentaram eosinofilia e basofilia como causa provável o fator alérgeno no ambiente.

## 4.2 EXPERIMENTO II

As médias dos resultados dos exames bioquímicos dos cães adultos de raça grande utilizados no experimento II, estão apresentadas na Tabela 6.

TABELA 6- MÉDIAS DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R2 ADICIONADA OU NÃO DE YSE\*

Parâmetro Bioquímico			Valores de referência**
	R2 sem YSE	R2 com YSE	
Proteína plasmática total	6,63 ± 0,44	6,80 ± 0,67	6,0-8,0 g/dL
Proteína total	6,91 ± 0,47	7,00 ± 0,52	5,4 - 7,1g/dL
Albumina	3,54 ± 0,15	3,43 ± 0,21	2,6 - 3,3g/dL
Globulinas	3,36 ± 0,55	3,56 ± 0,62	2,7 - 4,4g/dL
ALT <sup>1</sup>	35,94 ± 7,07	39,55 ± 6,36	12 – 88UI/L
AST <sup>2</sup>	42,28 ± 5,36	41,93 ± 7,41	12 – 88UI/L
Fosfatase alcalina	74,30 ± 42,21	101,38 ± 42,40	20 – 156UI/L
Uréia	37,15 ± 10,31	38,56 ± 6,77	20 – 60mg/dL
Creatinina	1,20 ± 0,14	1,28 ± 0,16	0,5 - 1,5mg/dL
Colesterol	152,18 ± 49,83	171,26 ± 55,97	135- 270mg/dL

\* YSE indica extrato de *Yucca schidigera*

\*\* indica Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná

1 Alaninoaminotransferase

2 Aspartatoaminotransferase

A adição de YSE na ração não afetou ( $p>0,05$ ) nenhum dos parâmetros bioquímicos (proteínas plasmáticas totais, proteína sérica total, albumina, globulina, ALT, AST, fosfatase alcalina, uréia, creatinina e colesterol). O mesmo resultado foi encontrado no experimento I conforme descrito anteriormente (Tabela 4, página 35)

As médias dos resultados dos hemogramas dos cães adultos de raça grande utilizados no experimento II, estão apresentadas na Tabela 7.

TABELA 7- MÉDIAS DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM CÃES ADULTOS CONSUMINDO RAÇÃO R2 ADICIONADA OU NÃO DE YSE\*

Parâmetro hemograma	Valores de referência**		
	R2 sem YSE	R2 com YSE	
Hemáceas	7,38 <sup>a</sup> ± 0,61	6,68 <sup>b</sup> ± 0,41	5,5 – 8,5 ×10 <sup>6</sup> /μL
Hemoglobina	17,44 ± 1,27	12,28 ± 1,21	12 – 18g/dL
Hematócrito	47,05 <sup>a</sup> ± 2,90	43,92 <sup>b</sup> ± 2,79	37 – 55%
VCM <sup>1</sup>	64,45 ± 3,60	66,02 ± 1,59	60 – 77fl
CHCM <sup>2</sup>	37,16 ± 1,08	37,14 ± 0,86	32 – 36%
Leucócitos	12805 ±1791	12805 ± 1875	6.000- 17.000/μL
Neutrófilos	8624,7 ± 1244,6	8617 ±1697,3	3000-11500/μL
Bastonetes	41,65 ± 52,94	13,15 ± 19,81	0-300/μL
Linfócitos	2434,5 ± 460,05	2431,7 ± 387,53	1000-4800/μL
Monócitos	824,8 ± 335,89	703,72 ± 260,09	150- 1350/μL
Eosinófilos	967,85 ± 458,82	1062 ±446,62	100-1250/μL
Basófilos	2,85 ± 8,06	12,75 ± 23,97	0-300/μL

\* YSE indica extrato de *Yucca schidigera*

\*\* indica Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná

1 VCM indica Volume Corpuscular Médio

2 CHCM indica Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

a,b - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si a 5% de significância.

A adição de 2g/Kg de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) na ração diminuiu ( $p<0,05$ ) os parâmetros sanguíneos de hemácias e hematócrito quando comparados aos animais que não receberam YSE. Esses resultados demonstram que pode ter ocorrido perda de hemácias ou hemólise no tratamento com YSE e está de acordo com COLES (1984). Por outro lado, LOWE e KERSHAW (1997b) não verificaram alterações nas contagens hematológicas em cães beagles adultos alimentados com YSE adicionada à ração na dose de 250 mg/kg. As saponinas esteróides, onde a *Yucca schidigera* se classifica, têm sido reportadas por terem ação lítica nas membranas das hemácias (FRANCIS *et al.*, 2002). Porém, alguns autores afirmaram (BARTHOLOMAI *et al.*, 2000) que os efeitos tóxicos da *Yucca* em mamíferos ocorre quando utilizada exclusivamente pela via intravenosa, sendo a toxicidade muito menor por via oral, eles explicam este fato devido à dificuldade em ser absorvida pela parede intestinal e penetrar na corrente sanguínea. RYAN e QUINN (1999) afirmaram que saponina não é tóxica para cães quando ingerida por via oral, devido à sua estrutura química, não sendo absorvida pelo trato digestivo. Nesse estudo foi verificado a tendência de diminuição nos parâmetros de hemácia e hematócrito,

porém permaneceram de acordo com os valores de referência, ressaltando a necessidade de outros ensaios com o YSE nas rações para cães.

#### 4.2.1 Conclusões do experimento II

A adição de extrato de *Yucca schidigera* na ração de cães não afeta os parâmetros bioquímicos (proteínas plasmáticas totais, proteína total, albumina, globulina, ALT, AST, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, colesterol) nem as concentrações de hemoglobina e leucograma.

A adição de extrato de *Yucca schidigera* na ração de cães pode ter ação hemolítica, pois há uma tendência de diminuição nos parâmetros sanguíneos de hemácias e hematócrito, contudo permanecendo dentro dos valores de referência, quando utilizado a dose de 2g/Kg por 60 dias.



## REFERÊNCIAS

- AMON, M.; DOBEIC, M.; MISSELBROOK, T. H.; PAIN, B. F.; PHILLIPS, V. R.; SNEATH, R. W. A farm study on the use of De-Odorase® for reducing odour and ammonia emissions from intensive fattening piggeries. *Bioresource Technology*, London, 51:163-169, 1995.
- ANDREASEN, C. B.; ROTH, J. A. Neutrophil Functional Abnormalities. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. , editors. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5<sup>th</sup> edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 357-365, 2000.
- ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. <sup>a</sup>; BONA FILHO, A. *Nutrição Animal*. São Paulo: Nobel, 4. ed. V.1 1985, 395p.
- BACILA, M. *Bioquímica Veterinária*. São Paulo: Robe Editorial, 2. ed. 2003, 583p.
- BAIDOO, S. K. Environmental impacts of swine, poultry nutrition discussed *Feedstuffs*, Minnetonka, 72 (26):12, 2000
- BANGHAM, A D.; HORNE, R.W. Action of sponin on biological cell membranes. *Nature*, London, 196:952-955, 1962.
- BARGER, A. M. The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, Philadelphia, 33:1207-1222, 2003.
- BARTHOLOMAI, G. B.; TOSI, E; GONZÁLEZ, R. Caracterización de compuestos nutritivos, no nutritivos y calidad protéica. *Cytel*, Buenos Aires, p. 39-45, 2000.
- BRAUN, J. P.; LEFEBVRE, H. P.; WATSON, A. D. J. Creatinine in the dog: a review. *Veterinary Clinical Pathology*, Santa Barbara, 32 (4): 162-179, 2003.
- CARCIOFI, A. C. Proteína na alimentação de cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO Campinas. *Anais...Campinas: CBNA*, 2: 31-44, 2002.
- CARCIOFI, A. C. Reflexões sobre a qualidade de uma ração para cães e gatos. In: I SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO, NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE CÃES E GATOS., 2005, Londrina. *Anais... Londrina: UEL*, 2005. CD.
- CARNIGLIA, G. Situação atual do mercado sul americano de alimentos para *pet* e perspectivas exportadoras do Brasil. III SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2003, Campinas. *Anais...Campinas:CBNA* : 5-10, 2003.
- CASE, L. P., CAREY, E. P., HIRAKAWA, D.A. Canine and feline nutrition:A resource for companion professionals. *St. Louis: Mosby*. 1995. 455p.

CLAPPER, G. M.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN, N. R.; RUSSET, J. C.; BRENT Jr, J. L.; FAHEY Jr, G. C. Ileal and total tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. *Journal of Animal Science*, Savoy, 79:1523-1532, 2001.

COLES, E. H. *Patologia Clínica Veterinária*. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

COLINA, J.J.; LEWIS, A.J.; MILLER, P.S.; FISCHER, R.L. Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery pig facilities. *Journal of Animal Science*, Savoy, 79:3096–3103, 2001.

CUNNINGHAM, J. G. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 579p.

DEVLIN, T. M. *Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas*. 4. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2000. 1007p.

DITTRICH, R. L.; SCHMIDT-POPAZOGLO, E. M. S.; MANGRICH-ROCHA, R. M. V.; PENSO, G. C.; SAITO, M. E.; SILVA, S. F. C.; PASSERINO, A. S.; LACERDA, O. P.; JAVOROUSKI, M. L.; PACHALY, J. R.; LANGE, R. R. Valores hematológicos e bioquímicos de lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*), em cativeiro no Estado do Paraná, Brasil. *Arq. Cien. Vet. Zool, Umuarama*, 6 (1):71-76, 2003.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. *Patologia Clínica Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217p.

ENGEL, C. L; MARINHO, M. L.; DURAND, A. H.; ENGEL, H.F Projeto Medcurso Do internato à residência: Hematologia v. 1 Rio de Janeiro: Fratari, 2003. 72p.

ETTINGER, S. J. Afecções das células sangüíneas, linfonodos e baço. SEÇÃO XIV. In: *Tratado de Medicina Interna Veterinária* 3.ed. São Paulo: Manole, p. 2577-2666, 1992

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C.; Hematologia e Imunologia Seção XV In: *Tratado de Medicina Interna Veterinária. Doenças do Cão e do Gato*. 5.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2, p. 1881-1957, 2004

FORTES, C. M. L.S. Alimentos Protéicos na Formulação de rações para cães. In: *ZOOTEC*, 2005, Campo Grande. Anais...Campo Grande: ZOOTE: 1-11, 2005.

FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, 88: 587-605, 2002.

FRASER, C. M. *Manual Merck de Veterinária*. 6.ed. São Paulo: Roca, 1991. 1803p.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K.; PACHALY, J.R. *Manual de Hematologia Veterinária*. São Paulo: Varela, 1994. 169p.

GEORGE, A.J. Legal status and toxicity of saponins. Food and Cosmetic Toxicology, Oxford, 3: 85-91, 1965.

GIFFARD, C. J.; COLLINS, S. B.; STOODLEY, N. C.; BUTTERWICK, R. F.; BATT, R. M. Administration of charcoal, *Yucca schidigera*, and zinc acetate to reduce malodorous flatulence in dogs. Journal of American Veterinary Medical Association, Schaumburg, 218(6): 892-896, 2001

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sangüíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: I SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2003, Porto Alegre. Anais...Porto Alegre:UFRGS, 73-87, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CARVALHO, V.; MÖLLER, V.; DUARTE, F.R. Blood biochemical profile in dogs and cats under different feedings diets. Archives of Veterinary Science, Curitiba, 8 (1): 23-27, 2003.

GRUNWALD, C. Sterol molecular modifications influence membrane permeability. Plant Physiology, Hanover, 54:624-628, 1974.

HAMMER, C. J. QUIGLEY, J. D. Plasma Proteins: Effect on Diet Digestibility and Immune Parameters in dogs. In: SOUTH AMERICAN PET FOOD FORUM, São Paulo, 2003.

HARWOOD Jr, H. J.; CHANDLER, C. E.; PELLARIN, L. D.; BANGERTER, F. W.; WILKINS, R. W.; LONG, C. A.; COSGROVE, P. G.; MALINOW, M. R.; MARZETTA, C. A.; PETTINI, J. L.; SAVOY, Y. E.; MAYNE, J. T. Pharmacologic consequences of cholesterol absorption inhibition: alteration in cholesterol metabolism and reduction in plasma cholesterol concentration induced by the synthetic saponin P-tigogen in cellobioside. Journal of Lipid Research, Memphis, 34:377- 395, 1993.

HEADON, D.; DAWSON, K. *Yucca* extract controls atmospheric ammonia levels. Feedstuffs, Minnetonka, 62 (29): p.16, 1990

HEADON, D. *Yucca schidigera*: Definitive mode of action and application in animal feed. The compounder. Bakewell, 2 (2):32-34, 1991

HEADON, D.R.; BUGGLE, K.; NELSON, A.; KILLEEN, G. Glycofractions of the *Yucca* plant and their role in ammonia control. Biotechnology in the feed industry, Nicholasville, KY: Alltech Technical Publications, 7:95–108, 1991.

HEGEDUS, M.; FEKETE, S.; SOLT, L.; ANDRASOFSZKY, E.; PALLOS, L. Assessment of nutritional adequacy of the protein in dog foods by trials on growing rats. Acta Veterinaria Hungarica, Budapest, 46 (1): 61-70, 1998

HESTA, M.; ROOSEN, W.; JANSSENS, G. P. J.; MILLET, S.; DE WILDE, E. Prebiotics affect nutrient digestibility but not faecal ammonia in dogs fed increased dietary protein levels. British Journal of Nutrition, Cambridge, 90:1007-1014, 2003.

JAIN, N. C. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia: Lea and Febiger. 1993. 417p.

KAYA, S.; ERDOGAN, Z.; ERDOGAN, S. Effect of different dietary levels of *Yucca schidigera* Powder on the performance, blood parameters and egg yolk cholesterol of laying quails. Journal of Veterinary Medicine Series A, Berlin, 50:14-17, 2003

KANEDA, N.; NAKANISHI, H.; STABA, E. J. Steroidal constituents of *Yucca schidigera* plants and tissue cultures. Phytochemistry, New York, 26:1425-1429, 1987.

KANEKO, J. J. Hemoglobin synthesis and destruction In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C.(ed). Schalm's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 135-139, 2000

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (ed). Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5. ed , New York: Academic Press, 1997. 932p.

KILLEN, G.; DUFFY, C. The effects of dietary supplementation with *Yucca schidigera* extract or fractions thereof on blood urea and ammonia levels in the rat. In:12<sup>th</sup> Annual Symposium on biotechnology in the feed industry. Poster... 1996.

KUZMUK, K. N.; SWANSON, K. L.; TAPPENDEN, K. A.; SCHOOK, L. B.; FAHEY Jr, G. C. Diet and Age Affect Intestinal Morphology and Large Bowel Fermentative End-Product Concentration in Seniors and Young Adult Dogs. The Journal of Nutrition, Philadelphia, 135:1940-1945, 2005.

LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology. 4.ed. Iowa: Iowa State Press. 2003. 448p.

LEWIS, L. D.; MORRIS Jr, M. L.; HAND, M. S. Small Animal Clinical Nutrition III. 6. ed. Topeka: Mark Morris Institute, 1994. 460p.

LILLIEHÖÖK, I.; TVEDTEN, H. Investigation of hypereosinophilia and potential treatments. Veterinary Clinics of North América. Small Animal Practice, Philadelphia, 33 (6):1359-1378, 2003.

LINDNER, E. Toxicologia de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 2. ed. p.10-12, 1995

LOPES, S. T. dos A.; CUNHA, C. M. S.; BIONDO, A. W.; FAN, L.C. Patologia Clínica Veterinária. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1996.166p.

LOWE, J. Effect of De-Odorase on fecal odor when added to an extruded dog diet. In: 7th ANNUAL SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY.1991, Lexington. Anais... Lexington, 1991.

LOWE, J.A.; KERSHAW, A.S. The ameliorating effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal aroma. Research in Veterinary Science, London, 63:61-66, 1997a.

LOWE, J.A.; KERSHAW, A.S. The effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal volatiles occurring concurrently with faecal aroma amelioration. Research in Veterinary Science, London, 63:67-71, 1997b.

LUCA, G. C.; REIS, B. F. Sistema em fluxo para determinação espectrofotométrica de uréia em plasma de sangue animal empregando leguminosa como fonte natural da enzima urease. Química Nova, São Paulo, 24 (2):191-194, 2001.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa número 8 - 2002. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>> Acesso em: 12 nov. 2005.

McCRORY, D.F.; HOBBS, P.J. Additives to Reduce Ammonia and Odor Emissions from Livestock Wastes: A Review. Journal of Environmental Quality, Madison, 30:345-355, 2001.

MEINKOTH, J. H.; CLINKENBEARD, K. D. Normal Hematology of the dog. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (ed) Schalm's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 1057-1063, 2000.

MIYAKOSHI, M.; TAMURA, Y.; MASUDA, H.; MIZUTANI, K.; TANAKA, O.; IKEDA, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K. Antiyeast Steroidal Saponins from *Yucca schidigera* (Mohave Yucca), a New Anti-Food-Deteriorating Agent. Journal of Natural Products, Columbus, 63:332-338, 2000.

MURRAY, S. M; PATIL, A. R.; FAHEY Jr, G. C.; MERCHEN, N. R.; HUGHES, D. M. Components of pet food: Raw and Rendered Animal by-products as Ingredients in dog diets. The Journal of Nutrition, Philadelphia, 128:2812S-2815S, 1998

OAKENFULL, D. Saponins in food- a review. Food Chemistry, Oxford, 7(1):19-40, 1981.

OLIVEIRA, N.J.F., MELO, M.M., LAGO, L.A. Hemogram, serum biochemistry and hepatic histologic features in cattle after administration of citrus pulp. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, 57(3): 418-422, 2005.

PATIL, A. R.; FAHEY Jr, G. C. Petfood Ingredients and Ingredient Processing Affect Dietary Protein Quality. In: Supplement to Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 21(11):1-5, 1999. supl.

POTTER, S.M.; JIMENEZ-FLORES, R.; POLLACK, J.; LONE, T. A.; BERBER-JIMENEZ, M. D. Protein-saponin interaction and its influence on blood lipids. Journal of Agriculture Food Chemistry, Columbus, 41:1287-1291, 1993.

PRADA, F. Alimentos Premium e super-premium para animais de estimação. II SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2002, Campinas. Anais...Campinas: CBNA:3-18, 2002.

PRIOR, J. Situação atual e perspectivas do mercado nacional de alimentos pet. III SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2003, Campinas. Anais...Campinas: CBNA:1-4, 2003.

PRESTON, R. L.; BARTLE, S. J.; MAY, T.; GOODALL, S.R. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. *Journal of Animal Science*. Savoy, 65:481-487, 1987.

RYAN, J. P.; QUINN, T.; MULLALLY, J.; LEEK, B. F. The Effects of Different Fractions of Yucca Plant Extract (De-Odorase) on the Fermentation of Hay in Ovine Ruminal Fluid In Vitro. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. Apopka, 1(2):132-135, 2003.

RYAN, P.; QUINN, T. Some beneficial effects of Yucca plant extracts in sheep and other domestic animals. In: *The Irish Scientist Year Book*. Dublin: Oldbury, 1999. Disponível em:< <http://www.irishscientist.ie/P175.htm>> Acesso em: 02 mai. 2005

SANTIN,E.; ALFARO, D.; OPALINSKI, M.; CAMARGO, H.; DUARTE, F. F.; VARGAS, F.S.C. Efeito do extrato de *Yucca schidigera* sobre o desempenho de frangos de corte vacinados contra coccidiose. SIMPÓSIO BRASILEIRO DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2004, Curitiba. Anais... Sessão de Pôsteres 2004,Curitiba: Alltech:23, 2004.

SCHULTZE, A. E. Interpretation of canine leukocyte responses. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (ed). *Schalm's Veterinary Hematology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 366-381, 2000.

SCOTT, M. A.; STOCKHAM, S. L. Basophils and Mast Cells In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (ed). *Schalm's Veterinary Hematology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 309-317, 2000.

SIDHU, G. S.; OAKENFULL, D. G. A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, 55:643-649, 1986.

SILVA Jr, J. W. da.; BORGES, F. M. de O.; MURGAS, L. D. S.; VALÉRIO, A.G.; MEDEIROS, G. C.; VIANA, R.; LIMA. L. M. S. Digestibilidade de dietas com diferentes fontes de carboidratos e sua influencia na glicemia e insulinemia de cães. *Cienc. Agrotec*, Lavras, 29(2):436-443, 2005.

SMITH, G. J.; RONGSTAD, O. J. Serologic and hematologic values of wild coyotes in Wisconsin. *Journal of Wildlife Diseases*, Ames, 16(4):491-497, 1980.

SUAREZ, J. C.; ALONSO, A. N. Effect of *Yucca schidigera* Extract (De-Odorase®) on evolution of ammonia from rice hull bedding for laboratory animals. *J. Animal Sci*. 69:232, 1991. Supl.1

SWANSON, K. S.; KUZMUK, K. N.; SCHOOK, L. B.; FAHEY Jr, G. C. Diets affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. *Journal Animal Science*, Savoy, 82:1713-1724, 2004.



SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Dukes Fisiologia dos animais domésticos. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 1996. 856p.

SZARFARE S. C.; STEFANINI M. L.; LERNER B. R.; Anemia Nutricional no Brasil. Cadernos de Nutrição, São Paulo, 9: 5-24, 1995.

TAYLOR, E. J.; ADAMS, C.; NEVILLE, R. Some nutritional aspects of ageing in dogs and cats. Proceedings of the Nutrition Society, London, 54: 645-656, 1995.

THOMAS, J. S. Overview of plasma protein. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (ed). Schalm's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 891-898, 2000.

USDA, NRCS. 2006. The PLANTS Database, Version 3.5 Data compiled from various sources by Mark W. Skinner. National Plant Data Center, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. Disponível em: <http://plants.usda.gov>> Acesso em: 02 fev. 2006.

VAL BICALHO, A. P. C; CARNEIRO, R. A. Apostila de Patologia Clínica. Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG. Disponível em: <http://www.vet.ufmg.br/clinica/documentos>> Acesso em: 04 jun. 2002.

WATSON, A. D. J.; CANFIELD, P. J. Nutritional Deficiency Anemias. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (ed). Schalm's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 190-194, 2000.

WHEELER, L. L. Breath a little easier. Good Dog. INFORME TÉCNICO ALLTECH Nicholasville, Kentucky- EUA 1993

WILLARD, M. D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G. H., (ed). Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. 2. ed. Philadelphia:W.B. Saunders; 1994.

WINTROBE, M. M., J. Clinical Hematology. Philadelphia, Lea and Febiger, 1974.

YAMKA, R. M.; JAMIKORN, U.; TRUE, A. D.; HARMON, D. L. Evaluation of soyabean meal as a protein source in canine foods. Animal Feed Science and Technology, 109: 121-132, 2003.